sebia

CAPILLARYS HR

Ref. 2004

IVD

CE

2009/04

UTILIZACIÓN

El kit CAPILLARYS HR permite realizar una separación de alta resolución en medio alcalino (pH 9,9) de las proteínas del suero humano, mediante electroforesis capilar en el sistema automático CAPILLARYS. Las proteínas del suero humano normal se separan en ocho fracciones principales.
El sistema CAPILLARYS permite realizar todas las etapas de la electroforesis hasta la obtención del perfil proteico para el análisis cualitativo o cuantitativo. Las proteínas, separadas en capilares de sílice fundido, son detectadas directamente en una burbuja existente en el capilar mediante espectrofotometría de absorbancia a 200 nm. Los perfiles electroforéticos son analizados visualmente para detectar las anomalías. La detección directa proporciona automáticamente una cuantificación relativa precisa de cuatro proteínas principales: albúmina, alfa-1 glicoproteína ácida (orosomucoide), alfa-1 antitripsina y haptoglobina.
La técnica CAPILLARYS HR también aporta una gran sensibilidad de detección de las proteínas monoclonales.

Para uso en diagnóstico *In Vitro*.

PRINCIPIO DEL TEST

La electroforesis de las proteínas del suero humano es un análisis muy útil en el laboratorio de análisis clínicos para investigar las modificaciones del perfil proteico. Paralelamente a las técnicas de electroforesis en diferentes soportes, entre los que está el gel de agarosa, se ha desarrollado la técnica de la electroforesis capilar, que ofrece las ventajas de una automatización completa del análisis, separaciones rápidas y una buena resolución. Se define como una técnica de separación electrocinética realizada en un tubo de diámetro interno inferior a 100 μm lleno de un tampón compuesto por electrolitos. Se considera una tecnología intermedia entre la electroforesis de zona en soporte y la cromatografía líquida.
El sistema CAPILLARYS usa el principio de la electroforesis capilar en solución libre, que representa la forma más corriente de electroforesis capilar. Permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia en un tampón de pH dado, y, según el pH del electrolito, de un flujo electroendosmótico más o menos importante. El sistema CAPILLARYS posee 8 capilares en paralelo, permitiendo realizar 8 análisis simultáneos. En este sistema, la inyección de las muestras en los capilares (diluidas con el tampón de análisis) se realiza en el ánodo por aspiración. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar. La detección directa de las proteínas se efectúa a 200 nm en el lado catódico. Los capilares se lavan a continuación con una solución de lavado, y luego con el tampón de análisis. Con el tampón usado de pH alcalino, el orden de migración de las proteínas séricas es el siguiente: gamma globulinas, beta-2 globulinas, beta-1 globulinas, alfa-2 macroglobulina, haptoglobina, alfa-1 antitripsina, alfa-1 glicoproteína ácida y albúmina.
La identificación de los picos y la interpretación cualitativa deben hacerse respecto a un suero de referencia normal.

REACTIVOS SUMINISTRADOS EN EL KIT CAPILLARYS HR

COMPONENTES	REF. N° 2004
Tampón (listo para usar)	2 contenedores de 700 mL
Solución de lavado (solución concentrada)	1 vial de 75 mL
Segmentos de dilución	1 bolsa de 70
Filtros	3 filtros

PARA OBTENER RESULTADOS ÓPTIMOS :
Los elementos de un mismo kit deben usarse conjuntamente y según las instrucciones suministradas.
LEA DETENIDAMENTE LAS HOJAS DE INSTRUCCIONES.

ATENCIÓN : No use agua destilada o desionizada comercial, como por ejemplo el agua para planchar (riesgo de deterioro importante de los capilares). Use exclusivamente agua de calidad ultrapura, como el agua para inyección.

1. TAMPÓN

Preparación
El tampón está listo para usar. Contiene: tampón alcalino, pH 9,9 ; aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.

Uso
Tampón para el análisis de las proteínas séricas mediante electroforesis capilar.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
El tampón debe conservarse a temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) o en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de tampón. No conserve el tampón cerca de una ventana o de una fuente de calor.
NOTA: Si el tampón de análisis ha sido conservado a 2 – 8 °C, conviene dejar que alcance la temperatura ambiente antes de usarlo.
NO LO CONGELE.
Deseche el tampón si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana, a un precipitado o a partículas en suspensión.

2. SOLUCIÓN DE LAVADO

Preparación
El vial de solución de lavado concentrada debe completarse hasta 750 mL con agua destilada o desionizada.
ATENCIÓN: La solución de lavado contiene sosa cáustica. Solución corrosiva. Provoca quemaduras graves. Consérvela lejos del alcance de los niños. En caso de contacto con los ojos, lávelos inmediatamente con agua en abundancia y consulte a un especialista. Quítese inmediatamente cualquier prenda manchada o salpicada por el producto. Use guantes adecuados y un sistema de protección ocular/facial.

Uso
Para lavar los capilares después de la separación electroforética de las proteínas.
IMPORTANTE : Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el cuello del contenedor, el conector y el tubo para evitar la acumulación de sales.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial de solución de lavado.
La solución diluida es estable durante 3 meses.
Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

3. SEGMENTOS DE DILUCIÓN

Uso
Segmentos de dilución, de un solo uso, para que el aparato realice la dilución de las muestras de suero. Deben colocarse en el cargador de muestras.
ATENCIÓN: Manipule con precaución los segmentos de dilución que contengan muestras biológicas.

4. FILTROS

Uso
Filtros de un solo uso para el filtrado del tampón, de la solución de lavado reconstituida y del agua destilada o desionizada (usada para la limpieza de los capilares).

IMPORTANTE: Cambie sistemáticamente los tres filtros al empezar un kit nuevo.

Enrosque un filtro al final de cada tubo que cuelga de los tapones de los contenedores de tampón, solución de lavado y agua destilada o desionizada. Al cambiar los filtros, lave los contenedores y los tubos con agua destilada o desionizada. Los filtros usados también deben lavarse con agua antes de su eliminación.
El filtro destinado al tampón de análisis debe usarse para la filtración de la totalidad de los dos contenedores de tampón listo para usar ; los otros dos filtros están destinados a la filtración de la solución de lavado reconstituida y del agua destilada o desionizada (solución de limpieza).

Conservación
Antes de usarlos, los filtros deben conservarse en su embalaje original herméticamente cerrado en un lugar seco a temperatura ambiente o en nevera.

REACTIVOS NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

1. AGUA DESTILADA O DESIONIZADA

Uso
Para lavar los capilares del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA.
Se recomienda usar agua destilada o desionizada filtrada (con un filtro de porosidad ≤ 0,45 μm).
Renueve el agua cada día para evitar contaminaciones microbianas. En caso de conservación prolongada, añada 35 μL/L de ProClin 300.

IMPORTANTE: Antes de llenar el contenedor de agua, se recomienda lavarlo con agua destilada o desionizada.

2. CAPICLEAN

Presentación
El vial de la solución enzimática concentrada CAPICLEAN (SEBIA, referencia n° 2058: 1 vial de 25 mL) contiene: enzimas proteolíticos, surfactantes y aditivos, inocuos a las concentraciones usadas, necesarios para un funcionamiento óptimo.
ATENCIÓN: La solución CAPICLEAN puede causar irritación o quemaduras cutáneas, oculares o de las mucosas.

Uso
Para la limpieza semanal de los capilares y de la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA.
Consulte la hoja de instrucciones del CAPICLEAN, SEBIA.

IMPORTANTE: No vuelva a usar el segmento de dilución después de limpiar los capilares y la cánula.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
El CAPICLEAN debe conservarse en nevera (entre 2 y 8 °C). Es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial. NO LO CONGELE.
Debe estar exento de precipitados. Deseche CAPICLEAN si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

3. SOLUCIÓN DE HIPOCLORITO DE SODIO (para la limpieza de la cánula de muestras)

Preparación
Prepare una solución de hipoclorito de sodio (lejía) de 9° clorométrica (entre 2 y 3 % de cloro) a partir de una dosis concentrada de 250 mL de 36° clorométrica (9,6 % de cloro) diluida hasta 1 litro (volumen final) en agua destilada o desionizada fría.

Uso
Para limpiar la cánula de muestras del aparato automático para electroforesis capilar, CAPILLARYS, SEBIA (mantenimiento semanal para eliminar cualquier proteína que se haya adsorbido a la cánula).
Consulte la hoja de instrucciones del CAPILLARYS, SEBIA.

- Use el cargador de muestras específico para el mantenimiento (n° 100).
- Coloque en este cargador, en la posición 1, un tubo de hemólisis que contenga 2 mL de la solución de hipoclorito de sodio preparada anteriormente.
- Introduzca el cargador n° 100 de mantenimiento en el sistema CAPILLARYS.
- En el menú de la ventana "MANTENIMIENTO" que aparece en la pantalla, seleccione la opción "Iniciar la limpieza de la cánula (solución de hipoclorito de sodio o solución de lavado CDT)", y luego confirme la selección.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro
La solución de hipoclorito de sodio de 9° puede conservarse 3 meses a temperatura ambiente en un recipiente de plástico cerrado herméticamente, protegido de la luz solar y de cualquier fuente de calor o ignición, y alejado de los ácidos y el amoniaco.

4. SOLUCIÓN DE LAVADO CAPILLARYS

Preparación

El vial de la solución de lavado concentrada (SEBIA, referencia n° 2052: 2 viales de 75 mL) debe completarse hasta 750 mL con agua destilada o desionizada.

ATENCIÓN: La solución de lavado contiene sosa cáustica. Solución corrosiva. Provoca quemaduras graves. Consérvela lejos del alcance de los niños. En caso de contacto con los ojos, lávelos inmediatamente con agua en abundancia y consulte a un especialista. Quítese inmediatamente cualquier prenda manchada o salpicada. Use guantes adecuados y un sistema de protección ocular/facial.

Uso

Para lavar los capilares del CAPILLARYS. Reactivo adicional necesario en caso de realizar series inferiores a 40 análisis.

IMPORTANTE: Antes de llenar el contenedor de solución de lavado, se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el cuello del contenedor, el conector y el tubo para evitar la acumulación de sales.

Conservación, estabilidad y señales de deterioro

Las soluciones de lavado concentrada y diluida deben conservarse a temperatura ambiente o en nevera en contenedores cerrados para evitar la evaporación. La solución concentrada es estable hasta la fecha de caducidad indicada en el kit o en la etiqueta del vial.
La solución diluida es estable durante 3 meses.
Deseche la solución de lavado diluida si cambia de aspecto o aparece turbidez debido a contaminación microbiana.

EQUIPAMIENTO Y ACCESORIOS NECESARIOS

1. Sistema de electroforesis capilar CAPILLARYS SEBIA, referencia n° 1220 ó n° 1222.
2. Cargadores de muestras, suministrados con el sistema CAPILLARYS.
3. Contenedores de plástico suministrados con el sistema CAPILLARYS: contenedor para la limpieza de los capilares (debe llenarse con agua destilada o desionizada), contenedor de solución de lavado y contenedor de desechos.

MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS

Extracción y conservación de las muestras

El análisis se hace con sueros frescos. Los sueros deben obtenerse de acuerdo con los procedimientos establecidos de uso en el laboratorio clínico.
Las muestras pueden conservarse un máximo de 2 días en nevera (entre 2 y 8 °C), sin ninguna degradación aparente del complemento C3. Después de 2 días de conservación a 2 – 8 °C, la degradación del complemento C3 afecta progresivamente a las zonas beta-1 y beta-2 y a la parte de la zona gamma contigua a beta-2 ; el resto de fracciones permanecen inalteradas hasta los 10 días de conservación a 2 – 8 °C.
Para conservaciones más prolongadas, congele rápidamente las muestras (como máximo durante las 8 horas siguientes a su obtención). Los sueros congelados son estables durante 1 mes.

NOTA: No conserve los sueros a temperatura ambiente.

Las proteínas de las muestras conservadas entre 2 y 8 °C se degradan, en particular el complemento C3.
A partir de los 2 días de conservación, la degradación del complemento C3 provoca una deformación de la fracción beta-2 (con una elevación al lado de beta-1) y la aparición de un pico suplementario al lado de la zona gamma que ocultaría la presencia eventual de una PCR aumentada (ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS).
Un suero conservado unos 8 días entre 2 y 8 °C presenta una desaparición progresiva de la fracción beta-2, la aparición de un pico suplementario al lado de la zona gamma (que ocultaría la eventual PCR aumentada) y la aparición de una elevación en la fracción beta-1 en la parte contigua a la fracción beta-2 (ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS).
A partir de los 8 días de conservación, la fracción beta-1 se deforma totalmente ensanchándose (con aparición de un nuevo pico al lado de la alfa-2 macroglobulina) ; se puede observar la presencia de un pico al lado de la fracción gamma en el lugar de la PCR y la fracción beta-2 desaparece casi totalmente, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.
Después de la congelación del suero, la fracción alfa-2 macroglobulina tiene tendencia a deformarse y disminuir.

Preparación de las muestras

Use directamente muestras de suero sin diluir.
Después de conservarlos en nevera (entre 2 y 8 °C) o congelarlos, algunos sueros (especialmente aquellos que contienen una crioglobulina o un criogel) se vuelven viscosos o turbios. Una vez que hayan alcanzado el estado líquido, estos sueros pueden analizarse directamente.
Igualmente, los sueros que contengan una inmunoglobulina polimerizada pueden analizarse directamente, sin ningún tratamiento previo.
Se recomienda observar el aspecto del suero antes del análisis (por si hay hemólisis, presencia de crioglobulinas o turbidez).

Muestras a descartar

- No use muestras hemolizadas. La hemólisis comporta la formación de un complejo hemoglobina / haptoglobina que provoca el desplazamiento de la fracción haptoglobina hacia la alfa-2 macroglobulina. Este fenómeno es visible incluso en muestras hemolizadas muy débilmente y, en algunos casos, la cuantificación de esta fracción ya no es posible.
- No use muestras de suero antiguas o mal conservadas, ya que las fracciones beta-1 y beta-2 estarán muy modificadas.
- No use muestras de plasma. El fibrinógeno migra justo antes de la fracción beta-2 (en la posición de la PCR) ; su presencia en algunas muestras (plasma, suero mal defibrinado o suero de paciente bajo tratamiento anticoagulante) puede falsear la interpretación del análisis (confusión con un aumento de la PCR).

PROCEDIMIENTO

El sistema CAPILLARYS es un instrumento multiparamétrico automático que permite realizar el análisis de las proteínas séricas en 8 capilares en paralelo según las etapas siguientes:

- lectura de los códigos de barras de los tubos primarios (hasta 8) y del cargador ;
- dilución de las muestras a partir de los tubos primarios ;
- lavado de los capilares ;
- inyección de las muestras diluidas ;
- separación y detección directa de las proteínas en los capilares.

Las etapas manuales son las siguientes:
- colocación de los tubos primarios en los cargadores ;
- introducción en el sistema CAPILLARYS ;
- recuperación de los cargadores después del análisis.

LEA DETENIDAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES DEL CAPILLARYS.

I. PREPARACIÓN DEL ANÁLISIS ELECTROFORÉTICO

1. Encienda el CAPILLARYS y el ordenador de control.
2. Abra el programa de gestión Phoresis (Capillarys) y valide el nivel de los reactivos, tras lo cual el aparato se iniciará automáticamente.
3. Use el kit CAPILLARYS HR con el programa de análisis "CAPILLARYS HR". Para saber cómo seleccionar el programa de análisis "CAPILLARYS HR" y conectar el contenedor de tampón CAPILLARYS HR al aparato, lea detenidamente el manual de instrucciones del CAPILLARYS.
4. El cargador de muestras posee 8 posiciones para tubos. Coloque hasta 8 tubos primarios en cada cargador, de forma que el código de barras de cada tubo quede encarado hacia la ventana de lectura del mismo.

   IMPORTANTE: Si el número de tubos que va a analizar es inferior a 8, complete el cargador poniendo tubos con agua destilada o desionizada.
5. Coloque un segmento de dilución nuevo en cada cargador (en caso de ausencia del segmento aparecerá un mensaje de advertencia).
6. Introduzca el (o los) cargador(es) completo(s) en el sistema CAPILLARYS por el orificio de entrada situado en medio del aparato. Se pueden introducir hasta trece cargadores a la vez, pudiéndose añadir nuevos cargadores de forma continua a medida que se vaya completando el análisis de los cargadores ya introducidos. Cuando quiera analizar un suero control, use el cargador específico n° 0, previsto a este efecto.
7. Saque de la cinta de salida, situada a la izquierda del aparato, los cargadores ya analizados.
8. Coja con precaución el segmento de dilución usado y deséchelo.

   ATENCIÓN: Manipule con cuidado los segmentos de dilución que contengan muestras biológicas.

DILUCIÓN - MIGRACIÓN - DESCRIPCIÓN DE LAS ETAPAS AUTOMÁTICAS

1. Lectura de los códigos de barras de los tubos primarios de muestra y del cargador.
2. Dilución de los sueros con el tampón de análisis, con limpieza de la cánula de muestras entre cada dilución.
3. Lavado de los capilares.
4. Inyección de las muestras diluidas en los capilares.
5. Migración a voltaje constante con temperatura controlada por efecto Peltier, durante unos 7 minutos.
6. Lectura a 200 nm y aparición simultánea del perfil proteico en la pantalla del ordenador.

NOTA: Estas etapas se realizan consecutivamente para el primer cargador de muestras introducido: los perfiles correspondientes a los tubos analizados se obtienen al cabo de 12 minutos. Para el cargador de muestras siguiente, las etapas 1 y 2 (lectura de los códigos de barras y dilución de los sueros) se realizan durante la etapa 5 (migración) del cargador anterior, disminuyendo el tiempo de obtención de resultados.

EXTINCION

1. Inicie el ciclo de extinción.
2. Antes de validar para que comience el ciclo, cambie el contenedor de tampón CAPILLARYS HR por un nuevo contenedor que contenga agua destilada o desionizada filtrada.
3. Confirme que quiere iniciar el ciclo de extinción (pulse “Si”) ; el ciclo de extinción se realizará automáticamente.

II. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Desde el final del análisis, se realiza automáticamente la cuantificación relativa de las fracciones y se pueden analizar los perfiles obtenidos.
A partir de la concentración de proteínas totales de la muestra se pueden calcular las concentraciones de las 4 proteínas principales siguientes: albúmina, orosomucoide, alfa-1 antitripsina y haptoglobina.
Los perfiles electroforéticos se analizan visualmente para detectar anomalías.

NOTA: La exactitud de los valores de concentración de las 4 proteínas principales dependerá de la del valor de las proteínas totales.

III. FIN DE LA SECUENCIA DE ANÁLISIS

El usuario debe realizar el procedimiento de extinción al final de la sesión de trabajo para conservar los capilares en condiciones óptimas.

IV. LLENADO DE LOS CONTENEDORES DE REACTIVO

El aparato automático CAPILLARYS permite una gestión automática de los reactivos.

IMPORTANTE: Es necesario seguir el procedimiento previsto para el cambio de los contenedores de reactivo (si no se hace correctamente los contenedores pueden despresurizarse y los análisis pueden verse afectados) y respetar el código de colores contenedor – conector en cada cambio de contenedor.

La aparición de la ventana de gestión de los reactivos indica que es necesario cambiar uno o varios reactivos:
- colocar un nuevo contenedor de tampón de análisis y/o,
- llenar el contenedor de lavado con la solución de lavado reconstituida y/o,
- llenar el contenedor de limpieza con agua destilada o desionizada filtrada y/o,
- vaciar el contenedor de desechos.

ATENCIÓN : No use agua destilada o desionizada comercial, como por ejemplo el agua para planchar (riesgo de deterioro importante de los capilares). Use exclusivamente agua de calidad ultrapura, como el agua para inyección.

IMPORTANTE: Se recomienda lavar con agua destilada o desionizada en abundancia el contenedor de limpieza antes de llenarlo.

Consulte el manual de instrucciones del CAPILLARYS.

RESULTADOS

Control de calidad
Se recomienda incluir una serie de análisis con un suero control al iniciar la sesión de trabajo.

Valores
La detección directa en el capilar a 200 nm proporciona las concentraciones relativas (porcentajes) de cada fracción. La concentración de cada proteína se calcula a partir de estas concentraciones relativas y la concentración de proteínas totales.
Los valores normales de las 4 proteínas principales han sido establecidos a partir de una población de 111 adultos que presentan valores normales en la determinación nefelométrica de estas 4 proteínas.

	CAPILLARYS HR	
Albúmina	60,7 - 71,1 %	34,12 - 49,94 g/L
Alfa-1 glicoproteína ácida (Orosomucoide)	0,3 - 1,2 %	0,19 - 0,73 g/L
Alfa-1 antitripsina	1,3 - 2,9 %	0,86 - 2,25 g/L
Haptoglobina	1,5 - 5,6 %	1,12 - 3,79 g/L

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores normales.

NOTA: Los valores normales han sido obtenidos con los parámetros de integración por defecto del programa (alisado 0 y deriva automática con triangulación).

Los valores de haptoglobina indicados son el doble de los usados habitualmente, pero correlacionan perfectamente con los valores obtenidos usando técnicas de determinación mediante anticuerpos.

Interpretación
El aumento de una o varias proteínas inflamatorias (orosomucoide y haptoglobina), acompañado o no de la aparición de un pico suplementario en la parte anódica de las gammaglobulinas (PCR), es indicativo de una inflamación.
Cualquier otra deformación del perfil respecto al normal también es indicativa de una anomalía, especialmente la aparición de un pico fino suplementario en las zonas beta-1, beta-2 y gammaglobulinas.
Puede sospecharse la presencia de un componente monoclonal en el suero si el mensaje de alerta siguiente aparece en pantalla : "Warning: Migration centering is out of range", o si el perfil proteico está retardado o deformado.
Para confirmar la presencia de un componente monoclonal en la muestra, será necesario realizar un tratamiento reductor con beta-mercaptoetanol y repetir el análisis tras el mismo. En este caso, prepare una solución reductora añadiendo un 1 % de beta-mercaptoetanol al Fluidil (SEBIA, referencia nº 4587, 1 vial de 5 mL). Estando el sistema CAPILLARYS preparado para analizar muestras, añada 100 µL de solución reductora a 300 µL de suero puro. Agite en el vórtex y deje que incube durante 15 minutos como máximo y luego siga con el procedimiento habitual.
IMPORTANTE : Después del tratamiento reductor con beta-mercaptoetanol, la muestra debe ser analizada inmediatamente ; no debe haber ningún otro cargador en espera de ser analizado en el sistema CAPILLARYS.
Cualquier aspecto monoclonal u oligoclonal debe confirmarse usando:
- el kit de inmunotipado SEBIA, CAPILLARYS IMMUNOTYPING o,
- los kits de inmunofijación SEBIA, HYDRAGEL IF.

Consulte la BIBLIOGRAFÍA si desea obtener información complementaria sobre la interpretación de los perfiles obtenidos.

Zonas alfa :
- La posición del pico de haptoglobina en el perfil electroforético es variable, dependiendo del fenotipo de haptoglobina (que migra entre las fracciones alfa-1 antitripsina y alfa-2 macroglobulina).
- Si la haptoglobina está muy disminuida (en un síndrome hemolítico por ejemplo), su pico no será identificado automáticamente en la técnica CAPILLARYS HR. Será entonces necesario delimitar manualmente la fracción haptoglobina.
- Igualmente, también será necesario delimitar manualmente la fracción orosomucoide cuando la concentración de esta proteína en el suero analizado sea muy baja o cuando esté cerca de la alfa-1 antitripsina.

Zonas beta :
- El complemento C4 migra entre las fracciones beta-1 y beta-2 ; la PCR migra en la zona gamma justo antes de la fracción beta-2 y se detecta a partir de unos 30 mg/L en suero fresco, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.
- La hemopexina puede aparecer como una elevación más o menos importante en la base de la beta-1 al lado de la alfa-2 macroglobulina, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.
- Las beta lipoproteínas pueden formar un pequeño pico entre las fracciones alfa-2 macroglobulina y beta-1, ver PERFILES ELECTROFORÉTICOS.
- Si las fracciones hemopexina y beta lipoproteínas están muy aumentadas, se detectarán como picos individuales suplementarios en la técnica CAPILLARYS HR.

Interferencias y limitaciones
Ver MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS.
Teniendo en cuenta los principios analíticos de las técnicas actuales (principios de la electroforesis de zona, resolución y sensibilidad), no hay garantías en cuanto a la detección total de todos los componentes monoclonales.

Resolución de problemas
Contacte con el Servicio de Asistencia Técnica de SEBIA en caso de que el análisis sea defectuoso.
Las fichas de datos de seguridad de los diferentes reactivos del kit, así como las informaciones relativas a la eliminación de los desechos, están disponibles en el Servicio de Asistencia Técnica de SEBIA.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Los resultados siguientes, obtenidos con el kit CAPILLARYS HR en el sistema CAPILLARYS mediante análisis cuantitativo, indican que la repetibilidad y la reproducibilidad del kit CAPILLARYS HR son muy buenas en todos los aspectos probados, con un coeficiente de variación medio del orden del 2,6 % en los porcentajes de las fracciones Albúmina, Alfa-1 glicoproteína ácida, Alfa-1 antitripsina y Haptoglobina.
Los porcentajes de las diferentes fracciones proteicas se obtuvieron con los parámetros de integración por defecto del programa (alisado 0 y deriva automática con triangulación).

Repetibilidad intraserial

Se analizaron cinco sueros (entre los que había un Suero Control Normal y un Suero Control Hipergamma, SEBIA) en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS HR y 2 lotes diferentes de tampón de análisis. Cada suero se analizó simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) (n = 8) de cada muestra con cada lote de tampón.
La tabla siguiente muestra los valores medios (en %), desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) obtenidos para las cuatro fracciones proteicas principales de los 5 sueros analizados:

FRACCIÓN	ALBUMINA	ALFA-1 GLICOPROTEINA ACIDA	ALFA-1 ANTITRIPSINA	HAPTOGLOBINA
Suero A: lote nº 1 / lote nº 2				
MEDIA (%)	58,6 / 58,3	1,3 / 1,3	2,4 / 2,4	5,4 / 5,6
SD	1,05 / 0,99	0,09 / 0,05	0,21 / 0,23	0,07 / 0,09
CV (%)	1,8 / 1,7	6,8 / 3,6	8,9 / 9,4	1,3 / 1,6
Suero B: lote nº 1 / lote nº 2				
MEDIA (%)	50,7 / 50,1	2,2 / 2,1	4,3 / 4,3	10,3 / 10,4
SD	0,95 / 0,79	0,05 / 0,05	0,16 / 0,14	0,18 / 0,19
CV (%)	1,9 / 1,6	2,2 / 2,3	3,7 / 3,2	1,8 / 1,9
Suero C: lote nº 1 / lote nº 2				
MEDIA (%)	62,8 / 62,5	0,4 / 0,5	2,5 / 2,4	2,6 / 2,8
SD	0,92 / 0,60	0,03 / 0,00	0,07 / 0,06	0,10 / 0,05
CV (%)	1,5 / 1,0	8,0 / 0,0	2,9 / 2,5	3,8 / 1,8
Suero D: lote nº 1 / lote nº 2				
MEDIA (%)	62,2 / 63,7	0,8 / 0,7	2,6 / 2,7	4,1 / 3,9
SD	0,78 / 0,43	0,03 / 0,00	0,09 / 0,07	0,07 / 0,07
CV (%)	1,3 / 0,7	4,2 / 0,0	3,2 / 2,6	1,7 / 1,7
Suero E: lote nº 1 / lote nº 2				
MEDIA (%)	44,6 / 44,1	1,9 / 1,9	2,7 / 2,8	3,6 / 3,8
SD	0,56 / 0,58	0,04 / 0,03	0,12 / 0,05	0,09 / 0,10
CV (%)	1,3 / 1,3	2,2 / 1,8	4,5 / 1,8	2,4 / 2,6

Reproducibilidad interserial

Se analizaron ocho sueros en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS HR. Cada suero se analizó simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS, y el análisis se repitió 10 veces con 3 lotes de tampón de análisis. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) (n = 10) de las cuatro fracciones proteicas principales de cada suero, para cada lote.
La tabla siguiente muestra los límites de los valores medios, SD y CV (%) obtenidos para las 8 muestras analizadas, y un coeficiente de variación medio calculado a partir de todos los coeficientes de variación (n = 24):

FRACCION	MEDIA (%)	SD	CV (%)	CV MEDIO (%)
Albúmina	44,5 - 66,7	0,12 - 1,38	0,2 - 2,2	0,8
Alfa-1 Glicoproteína ácida	0,4 - 1,8	0,00 - 0,06	0,0 - 7,6	3,9
Alfa-1 Antitripsina	2,3 - 3,2	0,04 - 0,10	1,4 - 3,9	2,5
Haptoglobina	2,7 - 7,6	0,05 - 0,16	0,9 - 4,5	2,2

Reproducibilidad interlotes

Se analizaron ocho sueros en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS HR con 3 lotes de tampón de análisis. Los sueros se analizaron simultáneamente en los 8 capilares del sistema CAPILLARYS, y el análisis se repitió 10 veces con cada lote. Se calcularon las medias, desviaciones típicas (SD) y coeficientes de variación (CV) (n = 30) de cada suero y de las cuatro fracciones proteicas principales.
La tabla siguiente muestra los límites de los valores medios, SD y CV (%) obtenidos para las 8 muestras analizadas con los 3 lotes de tampón de análisis, y un coeficiente de variación medio calculado a partir de todos los coeficientes de variación (n = 3):

FRACCION	MEDIA (%)	SD	CV (%)	CV MEDIO (%)
Albúmina	45,0 - 66,2	0,39 - 1,25	0,6 - 2,0	1,3
Alfa-1 Glicoproteína ácida	0,4 - 1,7	0,00 - 0,06	0,0 - 8,8	5,0
Alfa-1 Antitripsina	2,3 - 3,2	0,06 - 0,11	1,8 - 4,6	3,1
Haptoglobina	2,8 - 7,5	0,10 - 0,15	1,8 - 4,0	3,2

Exactitud

El análisis de 135 muestras diferentes, normales y patológicas, mediante electroforesis capilar en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS HR y con sistemas comerciales de determinación nefelométrica de las fracciones albúmina, alfa-1 glicoproteína ácida, alfa-1 antitripsina y haptoglobina, muestra una buena correlación entre los dos sistemas de análisis para el conjunto de las cuatro fracciones proteicas, con una sensibilidad media del 86,3 % y una especificidad media del 86,1 % respecto a la técnica nefelométrica, calculadas según el método recomendado (Wendling, 1986).

La tabla siguiente muestra los resultados del análisis de regresión lineal, y = CAPILLARYS HR:

Fracción	Coeficiente de correlación	Punto de corte en y	Pendiente	Límites de las concentraciones (g/L) CAPILLARYS HR
Albúmina	0,942	5,862	0,813	17,86 - 49,43
Alfa-1 Glicoproteína ácida	0,949	-0,109	0,834	0,14 - 2,96
Alfa-1 Antitripsina	0,879	0,109	1,117	0,40 - 5,31
Haptoglobina	0,969	0,743	1,614	0,32 - 9,87

Sensibilidad

Se diluyó serialmente un suero patológico con dos proteínas monoclonales de 0,90 y 4,86 g/L ; las muestras diluidas se analizaron a continuación en el sistema CAPILLARYS con el kit CAPILLARYS HR.

Las mayores diluciones que permitían ver esas bandas monoclonales fueron respectivamente las de 1/16 y 1/32 ; la menor concentración de una banda monoclonal detectada fue pues del orden de 0,06 a 0,15 g/L en esta muestra.

NOTA: El límite de detección de una paraproteína puede variar en función de la posición de la banda monoclonal y del fondo policlonal de la zona de las gammaglobulinas.

Linealidad

La técnica CAPILLARYS HR presenta una linealidad perfecta tras analizar una mezcla con concentraciones variables de albúmina (52 g/L) y gammaglobulinas (31 g/L).

BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAPHY

1. Bienvenu J. Les protéines de la réaction inflammatoire. Définition, physiologie et méthodes de dosage. *Ann. Biol. Clin.*, 1984, 42 : 47 - 52.
2. Clark R *et al.* Rapid capillary electrophoretic analysis of human serum proteins : qualitative comparison with high-throughput agarose gel electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 744, 205 - 213 (1996).
3. Engler R. Protéines de la réaction inflammatoire. Fonctions régulatrices. *Ann. Biol. Clin.*, 1988, 46 : 336 - 342.
4. Frot JC, Hofmann H, Muller F, Benazet MF, Giraudet P. Le concept du profil protéique. *Ann. Biol. Clin.*, 1984, 42 : 1 - 8.
5. Grant GH, Silverman LM, Christenson RH. Amino acids and proteins. Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd edition. Philadelphie : WB Saunders, 1987 : 291 - 345.
6. Henskens Y *et al.* Detection and identification of monoclonal gammopathies by capillary electrophoresis. *Clin. Chem.*, 44, 1184 - 1190 (1998).
7. Jellum E *et al.* Journal of Chromatography Biomedical Applications : Diagnostic applications of chromatography and capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. B*, 689, 155 - 164 (1997).
8. Jenkins MA and Guerin MD. Quantification of serum proteins using capillary electrophoresis. *Ann. Clin. Biochem.*, 32, 493 - 497 (1995).
9. Jenkins MA *et al.* Evaluation of serum protein separation by capillary electrophoresis : prospective analysis of 1000 specimens. *J. Chromatogr. B*, 672, 241 - 251 (1995).
10. Jenkins MA and Guerin MD. Journal of Chromatography Biomedical Applications : Capillary electophoresis procedures for serum protein analysis : comparison with established techniques. *J. Chromatogr. B*, 699, 257 - 268 (1997).
11. Jenkins MA and Ratnaike S. Five unusual serum protein presentations found by capillary electrophoresis in the clinical laboratory. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 41, 31 - 47 (1999).
12. Johnson AM, Alper CA. Deficiency of alpha 1-antitrypsin in childhood liver disease. *Pediatrics*, 1970, 46 : 921 - 925.
13. Johnson AM. A new international reference preparation for proteins in human serum. *Arch Pathol Lab Med*, 1993, 117 : 29 - 31.
14. Katzmann JA *et al.* Identification of monoclonal proteins in serum : A quantitative comparison of acetate, agarose gel, and capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 18, 1775 - 1780 (1997).
15. Landers JP. Clinical Capillary Electrophoresis. *Clin. Chem.,* 41, 495 - 509 (1995).
16. Marshall WJ, eds. Plasma proteins. Illustrated textbook of clinical chemistry. Londres : Gower Medical Publishing 1988 : 207 - 218.
17. Oda RP *et al.* Capillary electrophoresis as a clinical tool for the analysis of protein in serum and other body fluids. *Electrophoresis*, 18, 1715 - 1723 (1997).
18. Romette J. Les marqueurs protéiques de l'inflammation et de la dénutrition. *Feuillets de Biologie*, 1987, XXVIII, 156, 69 - 73.
19. Routledge PA. Clinical relevance of Alpha1-Acid Glycoprotein in health and disease. Baumann P, eds. Alpha1 Acid Glycoprotein : Genetics, Biochemistry, Physiological Functions and Pharmacology. New York : AR Liss, 1989 : 185 - 198.
20. Schmidt K. Alpha1-Acid Glycoprotein. Putnam FW eds. The Plasma Proteins. New York : Academic Press, 1975 : 183 - 228.
21. Silverman EK, Pierce JA, Province MA *et al.* Variability of pulmonary function in alpha-1 antitrypsin deficiency : Clinical correlation. *Ann. Intern Med*, 1989, 111 : 982 - 991.
22. Wijnen PA and van Dieijen-Visser M. Capillary Electrophoresis of Serum Proteins : Reproducibility, Comparison with Agarose Gel Electrophoresis and a Review of the Literature. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 34, 535 - 545 (1996).
23. Wendling A. Procédures de diagnostic ou de dépistage : Justification et validité d'un test de diagnostic ou de dépistage-sensibilité-spécificité. *Impact-Internat*, Sept : 93 - 97 (1986).

SCHÉMAS / FIGURES

PROFILS ÉLECTROPHORÉTIQUES - ELECTROPHORETIC PATTERNS

Figure 1

Profil normal
Normal pattern

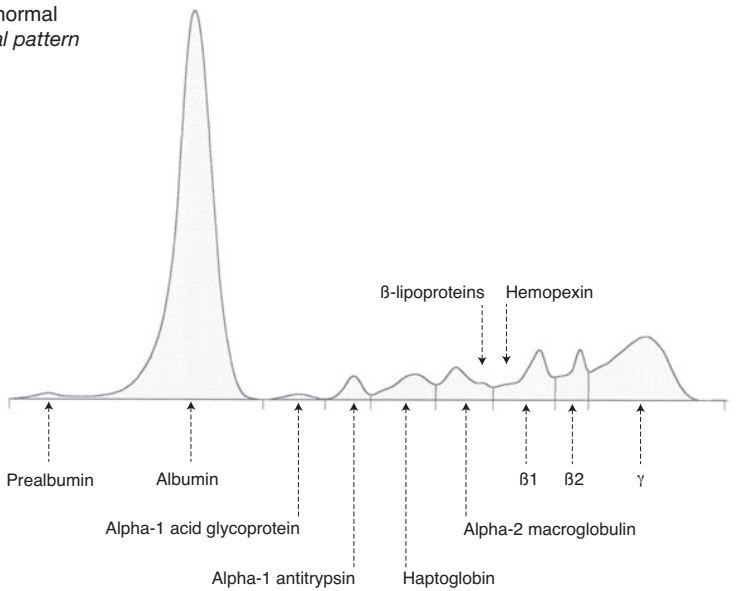
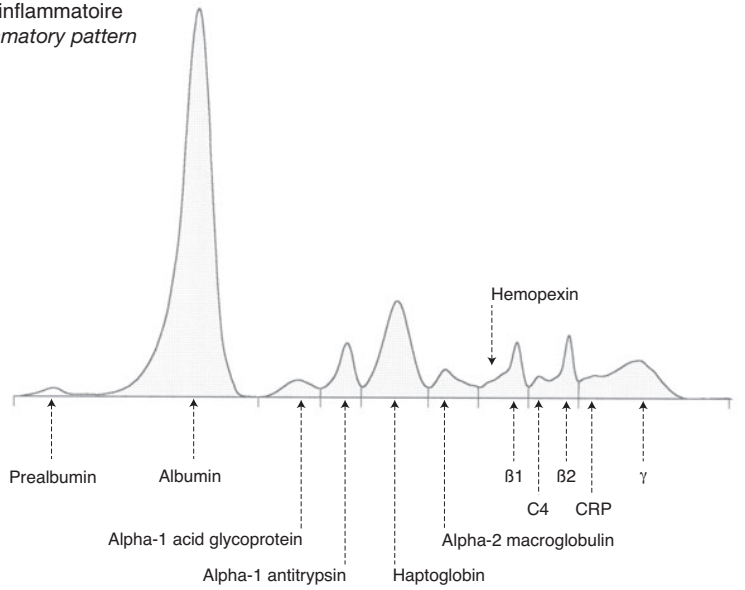


Figure 2

Profil inflammatoire
Inflammatory pattern



SCHÉMAS / FIGURES

PROFILS ÉLECTROPHORÉTIQUES - ELECTROPHORETIC PATTERNS

Figure 3

Profil avec complément C3 dégradé
Pattern with degradated C3 complement